| | |
|---|---|
| ชื่อวิทยานิพนธ์ | การคัดเลือกและการผลิตมวลชีวภาพเชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai เพื่อใช้ควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) ที่เกิดจากเชื้อรา *Rhizoctonia solani* Kuhn |
| ผู้เขียน | นางสาวภรณี สว่างศรี |
| สาขาวิชา | โรคพืชวิทยา |
| ปีการศึกษา | 2545 |

## บทคัดย่อ


เชื้อรา *Trichoderma* spp. ซึ่งแยกได้จากดินปลูกถั่วลิสง (*Arachis hypogaea* L.) และถั่วหรั่ง (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) จำนวน 23 แปลง ในพื้นที่จังหวัดสงขลา, พัทลุง, นครศรีธรรมราช, นราธิวาส และยะลา จำนวนทั้งสิ้น 462 สายพันธุ์ นำมาทดสอบการเป็นเชื้อราปฏิปักษ์ต่อเชื้อรา *Rhizoctonia solani* สาเหตุโรคใบไหม้ของถั่วหรั่ง จำนวน 249 สายพันธุ์ โดยวิธี dual culture บนอาหาร PDA พบว่าจำนวน 226 สายพันธุ์ มีความสามารถในการเจริญเข้าครอบครองเชื้อรา *R. solani* โดยสมบูรณ์ และในจำนวนนี้มีเพียง 13 สายพันธุ์ ที่มีความสามารถในการเป็นปรสิตต่อเส้นใยของเชื้อรา *R. solani* และพบว่า สายพันธุ์ ThB-I-54 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด เมื่อทดสอบบนอาหาร congo red agar ซึ่งต่อมาจำแนกได้เป็นเชื้อรา *Trichoderma harzianum* Rifai แล้วจึงนำเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวมาผลิตในรูปแบบมวลชีวภาพเมล็ดข้าวฟ่าง, ข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์, กากใยปาล์มบด และกากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์ เพื่อใช้ในการทดสอบศักยภาพในการควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งในสภาพเรือนทดลองและแปลงทดลองขนาดเล็ก

การทดสอบในสภาพเรือนทดลองขั้นที่ 1 วางแผนการทดลองโดยวางทรีตเมนท์แบบ factorial วางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (completely randomized design) ผลการทดลองพบว่า มวลชีวภาพเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ที่เจริญในวัสดุ ข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์ก้านปกติ 74.69 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ เมล็ดข้าวฟ่าง (69.55 เปอร์เซ็นต์), กากใยปาล์มบด (65.47 เปอร์เซ็นต์), เชื้อรา *T. harzianum* ที่มีขายทั่วไป (65.45 เปอร์เซ็นต์) และสารฆ่าเชื้อรา iprodione (50.00 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนี้ยังพบว่า การประยุกต์ใช้มวลชีวภาพของเชื้อราปฏิปักษ์สายพันธุ์ ThB-I-54 ก่อนปลูกเชื้อราสาเหตุ *R. solani* 2 วัน สามารถควบคุมโรคใบไหม้ของถั่วหรั่งได้ดีที่สุด

การทดสอบในสภาพเรือนทดลองขั้นที่ 2 วางแผนการทดลองเช่นเดียวกับการทดลองที่ 1 โดยการประยุกต์ใช้มวลชีวภาพ สายพันธุ์ ThB-I-54 ร่วมกับเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ NC-92 และทำการปลูกเชื้อราสาเหตุ 1 วันก่อนใส่มวลชีวภาพของสายพันธุ์ ThB-I-54 ผลการทดลองพบว่ามวลชีวภาพของสายพันธุ์ ThB-I-54 ที่เจริญในข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์ สามารถควบคุมโรคได้ดีที่สุด โดยมีเปอร์เซ็นต์จำนวนก้านปกติ 98.72 เปอร์เซ็นต์ รองลงมาคือ สารฆ่าเชื้อรา iprodione (97.47 เปอร์เซ็นต์), กากใยปาล์มบด (95.18 เปอร์เซ็นต์), กากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์ (91.29 เปอร์เซ็นต์) และเชื้อรา *T. harzianum* ที่มีขายทั่วไป (85.21 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งการประยุกต์ใช้มวลชีวภาพสายพันธุ์ ThB-I-54 ในรูปแบบข้าวฟ่างผสมโดโลไมท์ร่วมกับเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ NC-92 ให้ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์จำนวนก้านปกติ จำนวนและน้ำหนักปมต่อต้น และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดสูงที่สุด ส่วนการใช้เชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ NC-92 อย่างเดียว ไม่มีผลต่อการควบคุมโรคใบไหม้ จำนวนและน้ำหนักปมต่อต้น

การทดสอบในสภาพแปลงทดลองขนาดเล็ก วางแผนการทดลองแบบสุ่มในบล็อกสมบูรณ์ (randomized complete block design) และทำการปลูกเชื้อรา *R. solani* ก่อน 2 วัน แล้วจึงใส่มวลชีวภาพของสายพันธุ์ ThB-I-54 ผลการทดลองพบว่า การใช้มวลชีวภาพสายพันธุ์ ThB-I-54 ในรูปแบบกากใยปาล์มบด, กากใยปาล์มบดร่วมกับเชื้อ *Rhizobium* sp. สายพันธุ์ NC-92 และสารฆ่าเชื้อรา iprodione ไม่มีผลต่อน้ำหนักสดและแห้งของเมล็ด น้ำหนักซากสด ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในลำต้นและเมล็ด

หลังจากทำการเก็บรักษามวลชีวภาพไว้ที่อุณหภูมิห้อง (26-32 องศาเซลเซียส) นาน 8 เดือน แล้วทำการตรวจสอบโดยวิธี dilution technique เพื่อนับจำนวน cfu ของสายพันธุ์ ThB-I-54 พบว่ามวลชีวภาพของสายพันธุ์ ThB-I-54 ที่เลี้ยงในวัสดุกากใยปาล์มบดมีจำนวนประชากรของเชื้อรา *T. harzianum* สูงกว่าในวัสดุเมล็ดข้าวฟ่าง โดยจำนวนของเชื้อรา *T. harzianum* สายพันธุ์ ThB-I-54 ที่เลี้ยงในรูปแบบกากใยปาล์มบดผสมโดโลไมท์ที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและไม่อบฆ่าเชื้อปนเปื้อน เท่ากับ $1x10^{17}$ และ $1x10^{14}$ cfu/กรัม ตามลำดับ

| | |
|---|---|
| Thesis Title | Screening and Production of *Trichoderma harzianum* Rifai Biomass for Controlling Leaf Blight of Bambara Groundnut (*Vigna subterranea* (L.) Verdc.) Caused by *Rhizoctonia solani* Kuhn |
| Author | Miss Paranee Sawangsri |
| Major Program | Plant Pathology |
| Academic Year | 2002 |


## Abstract

Four hundred and sixty two isolates of *Trichoderma* spp. were isolated from 23 soil samples in which groundnut (*Arachis hypogaea* L.) and bambara groundnut (*Vigna subterranea* L. Verdc.) had been planted in Songkhla, Pattalung, Nakhonsrithammarat, Narathiwat and Yala provinces. These fungi were tested against *Rhizoctonia solani*, a causal agent of leaf blight of bambara groundnut, using dual culture technique on PDA medium. Among 249 isolates, 226 isolates had an ability to overgrow colony of *R. solani* completely. Further tests showed that 13 isolates of *Trichoderma* spp. had an ability to parasitize (coiling) mycelia of *R. solani*. Among these isolates, ThB-I-54 had the capability to produce a cellulolytic enzyme based upon its activity on congo-red agar. This isolate was later identified as *Trichoderma harzianum* Rifai. This fungus was produced either on sorghum grains, blended sorghum grains plus dolomite, blended oil palm mesocarp fiber and blended oil palm mesocarp fiber plus dolomite. Each type of biomass was later tested for its efficacy to control leaf blight of bambara groundnut in green house and small plot field experiments.

In the first greenhouse trial, the experiment was arranged in a factorial in completely randomized design (CRD). Biomass of *T. harzianum* ThB-I-54 growing on blended sorghum grains plus dolomite gave the best control (74.69%), followed by sorghum grain (69.55%), blended oil palm mesocarp fiber (65.47%), commercial formulation of *T. harzianum* (65.45%) and iprodione (50.00%), based upon percentage of healthy petioles. Applying biomass of ThB-I-54 2 days before *R. solani* inoculation provided the best control against the leaf blight pathogen.

In the second greenhouse trial test using a similar experimental design, biomass of ThB-I-54 was applied in conjunction with *Rhizobium* sp. NC-92 and *R. solani* was inoculated a day before the application of biomass of ThB-I-54. It was found that biomass of ThB-I-54 growing on blended sorghum grain plus dolomite gave the best control (98.72%), followed by iprodione (97.47%), blended oil palm mesocarp fiber (95.18%), blended oil palm mesocarp fiber plus dolomite (91.29%) and commercial formulation of *T. harzianum* (85.21%), based upon percentage of healthy petioles. The application of biomass of ThB-I-54 growing on blended sorghum grain plus dolomite and *Rhizobium* sp. NC-92 gave the highest percentage of healthy petioles, number and weight of nodules per plant and amount of total nitrogen. Application of *Rhizobium* sp. NC-92 alone had no effect on leaf blight control, or number and weight of nodules per plant.

In a small plot field, the experiment was arranged in randomized complete block design (RCBD) and *R. solani* was inoculated 2 days before the application of biomass of ThB-I-54. Application of biomass of ThB-I-54 growing on blended oil palm mesocarp fiber, blended oil palm mesocarp fiber and *Rhizobium* sp. NC-92 and iprodione had no effect on fresh and dry seed weight, fresh stem weight, or amount of total nitrogen in stem and seed.

To determine the storage life of the biomass, a dilution technique was used to assess the number of colony forming units of ThB-I-54 when stored at room temperature (26-32 $^{0}$C) for 8 months. Biomass of the ThB-I-54 growing on blended oil palm mesocarp fiber had higher number of *T. harzianum* than that of blended sorghum grain. The number of *T. harzianum* ThB-I-54 growing on blended oil palm mesocarp fiber plus sterile dolomite and blended oil palm mesocarp fiber plus non-sterile dolomite were $1 \times 10^{17}$ and $1 \times 10^{14}$ cfu/g respectively.